

New flavone or isoflavone glycoside polyunsaturated or araliphatic ester derivatives, useful in cosmetic, pharmaceutical, food or feed compositions, e.g. for treating sunlight-induced skin aging

Patent Number : WO200179245

International patents classification : A61K-007/42 C07H-017/04 C07H-017/07 A23K-001/16 A23L-001/03 A23L-001/30 A23L-003/3544 A61K-007/00 A61K-007/48 A61K-031/7048 A61P-017/16 C12P-007/62 C12P-019/44 C12P-019/60

• Abstract :

WO200179245 A NOVELTY - Flavone or isoflavone glycoside polyunsaturated or araliphatic ester derivatives (I) are new.

DETAILED DESCRIPTION - Flavone or isoflavone glycoside derivatives of formula (I) are new.

(X-O-Z') = (iso)flavone glycoside structure;

X = (iso)flavone basic structure of formula (a) or (b), which is mono- or polysubstituted and/or mono- or poly-reduced (hydrogenated);

Z' = mono-, di- or polysaccharide, having an acetal bond to X and substituted by n A2-containing ester groups;

A1C(O) = acyl group bonded to X;

A2C(O) = acyl group bonded to Z';

A1, A2 = polyunsaturated 15-25C alkenyl, containing at least 4 isolated and/or at least 2 conjugated double bonds; or araliphatic group containing 1-4 methylene groups between the ester group and the aromatic ring;

n = integer (not zero);

m = 0 or integer;

R1-R3 = H or OH.

An INDEPENDENT CLAIM is included for the preparation of (I).

ACTIVITY - Dermatological; antidiabetic; vasotropic; ophthalmological; antiarteriosclerotic, prostaglandin; antiinflammatory; thrombolytic; hypotensive.

MECHANISM OF ACTION - Oxygen radical scavenger; antioxidant; protease inhibitor; aldose reductase inhibitor; prostaglandin synthesis inhibitor; leukotriene synthesis inhibitor; collagenase inhibitor; tyrosinase inhibitor. 6-O-Naringin-(3-phenyl-propionic acid) ester (Ia) had IC50 0.18% for inhibition of tyrosinase.

USE - (I) show a combination of the activities of the (iso)flavone glycoside components (e.g. oxygen radical scavenging, antioxidant, skin protease inhibiting, anti-skin aging and scarring, colorant, aldose reductase inhibiting, anti-diabetic vascular damage or cataract, vasodilatory or capillary activity) and those of the acid component (e.g. anti-arteriosclerotic, prostaglandin- and leukotriene synthesis inhibiting, antiinflammatory, thrombolytic or hypotensive activity). (I) may be used in cosmetic, pharmaceutical, food or feed compositions (claimed). In particular (I) inhibit matrix metalloprotease-1 (MMP-1; collagenase) and tyrosinase, and are used (claimed) for the cosmetic treatment of sunlight-induced aging of human skin or for cosmetic skin lightening.

ADVANTAGE - (I) show higher bioavailability, stronger activity, a broader spectrum of activity, reduced side-effects (e.g. phototoxicity), better resorbability and/or more rapid skin penetration compared with the parent compounds or related known compounds. (Dwg.0/0)

• Publication data :

Patent Family : WO200179245 A1 20011025 DW2002-01 C07H-017/07 Ger 36p * AP: 2001WO-EP04151 20010411 DSNW: AU BG BR BY CA CN CZ DZ HU ID IL IN JP KR MX NO NZ PL RO RU SG SI SK UA US UZ VN YU ZA DSRW: AT BE CH CY DE DK ES FI FR GB GR IE IT LU MC NL PT SE TR

DE10019235 A1 20011031 DW2002-01 C07H-017/04

AP: 2000DE-1019235 20000418

AU200150423 A 20011030 DW2002-19 C07H-017/07 FD: Based

on WO200179245 AP: 2001AU-0050423 20010411

EP1274712 A1 20030115 DW2003-06 C07H-017/07 Ger FD:

Based on WO200179245 AP: 2001EP-0923722 20010411;

2001WO-EP04151 20010411 DSR: AT BE CH CY DE DK ES FI

FR GB GR IE IT LI LU MC NL PT RO SE SI TR

US20030170186 A1 20030911 DW2003-67 A61K-

007/42 AP: 2001WO-EP04151 20010411; 2003US-0258049

20030424

JP2004501086 W 20040115 DW2004-10 C07H-017/07 57p FD:

Based on WO200179245 AP: 2001JP-0576843 20010411;

2001WO-EP04151 20010411

Priority n° : 2000DE-1019235 20000418

Covered countries : 49

Publications count : 6

• Patentee & Inventor(s) :

Patent assignee : (COGN-) COGNIS DEUT GMBH

(HENK) HENKEL KGAA

(COGN-) COGNIS DEUT GMBH & CO KG

(GEER/) GEERS B

(OTTO/) OTTO R

(PETE/) PETERSOHN D

(SCHL/) SCHLOTMANN K

(SCHR/) SCHROEDER K R

(WEIS/) WEISS A

Inventor(s) : GEERS B; OTTO R; WEISS A; PETERSOHN D;

SCHLOTMANN K; SCHROEDER KR

• Accession codes :

Accession N° : 2002-011118 [01]

Sec. Acc. n° CPI : C2002-002830

• Derwent codes :

Manual code : CPI: B06-A01 B14-C03

B14-D05D B14-D07C B14-E11 B14-F02B

B14-F02D B14-F04 B14-F07 B14-L08

B14-N03 B14-N17 B14-R01 B14-S04 B14-

S08 D03-H01T D05-A02C D05-C08 D05-

C09 D05-C15 D08-B09A1 D08-B09A3

E06-A01 E11-F06 E11-M

Derwent Classes : B03 D13 D16 D21 E13

Compound Numbers : RA79DL-T

• Update codes :

Basic update code :2002-01

Equiv. update code :2002-01; 2002-19;

2003-06; 2003-67; 2004-10

THIS PAGE BLANK (USPTO)

RA79DL-N RA79DL-P 0052-29001-T
0052-29001-N 0052-29001-P RA79DL-T
RA79DL-N RA79DL-P 0052-29001-T
0052-29001-N 0052-29001-P

Others :**Technology Abstract****TECHNOLOGY FOCUS****ORGANIC CHEMISTRY - Preparation:**

Claimed preparation of (I) involves esterification or transesterification of an acetal X-O-Z' (in which the (iso)flavone structure is optionally in the form of a mixture derived from plant extracts) with acid(s) A1COOH/A1COOH (or corresponding esters or activated derivatives) under enzymatic catalysis. Specifically the acid is a conjugated linoleic acid and the enzymatic catalyst consists of hydrolase(s), preferably derived from Candida rugosa, Candida antarctica, Geotrichum candidum, Aspergillus niger, Penicillium roqueforti, Rhizopus arrhizus or Mucor miehei, especially the lipase (isoenzyme B) from Candida antarctica. The reaction mixture is preferably purified by 2-phase extraction using water and an organic solvent (e.g. n-hexane, cyclohexane, tetrahydrofuran or diethyl ether) or by chromatography on silica gel (preferably using ethyl acetate/methanol or dichloromethane mixtures containing a small amount of acetic acid and/or water).

Keyword Index Terms

[1] 550711-1-0-0-CL; 550711-1-0-0-NEW; 550711-1-0-0-PRD; 0052-29001-CL; 0052-29001-NEW; 0052-29001-PRD

UP4

2002-01

UE4

2002-01; 2002-03; 2003-01; 2003-10; 2004-02

THIS PAGE BLANK (USPTO)



⑮ **BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND**



**DEUTSCHES
PATENT- UND
MARKENAMT**

⑫ **Offenlegungsschrift**
⑩ **DE 100 19 235 A 1**

⑳ Aktenzeichen: 100 19 235.1
㉔ Anmeldetag: 18. 4. 2000
㉕ Offenlegungstag: 31. 10. 2001

㉖ Int. Cl.⁷:
C 07 H 17/04
C 12 P 19/60
A 61 K 31/7048
A 61 K 7/00
A 23 L 1/03
A 23 K 1/16

DE 100 19 235 A 1

㉗ **Anmelder:**
Henkel KGaA, 40589 Düsseldorf, DE; Cognis
Deutschland GmbH, 40589 Düsseldorf, DE

㉘ **Vertreter:**
Dehmel & Bettenhausen, Patentanwälte, 80469
München

㉙ **Erfinder:**
Geers, Bernadette, Dr., 40219 Düsseldorf, DE; Otto,
Ralf, Dr., 74177 Bad Friedrichshall, DE; Weiss,
Albrecht, Dr., 40764 Langenfeld, DE

㉚ **Entgegenhaltungen:**
Chem. Abstr. 102, 146129 (1985);
Pat. Abstr. of Jp., zu JP 5-255376 A;
Pat. Abstr. of Jp., zu JP 11-269066 A;
Pharmazie 47 (1992) S. 877;
Helvetica Chimica Acta 76 (1993) 2981-2987;
Chem. Pharm. Bull. 36 (1988) 3654-3658;

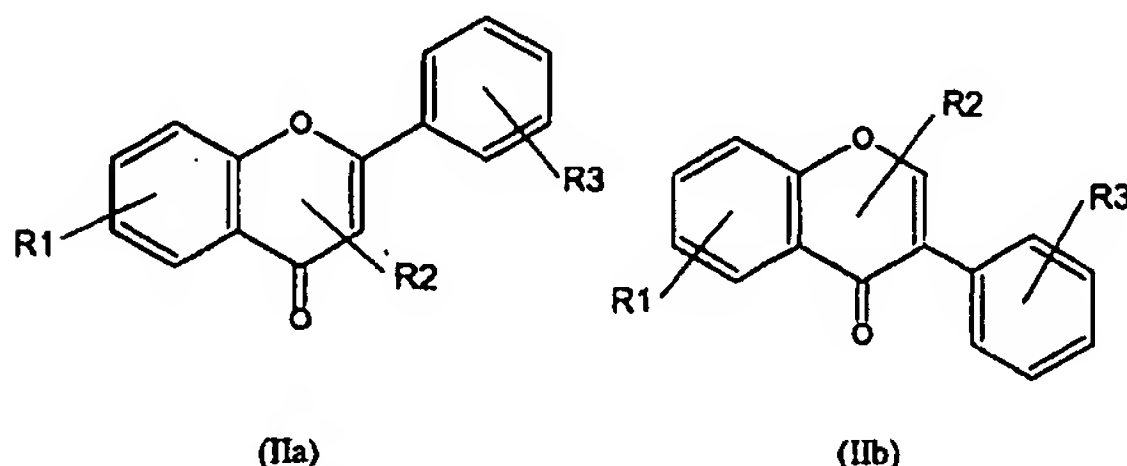
Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

Prüfungsantrag gem. § 44 PatG ist gestellt

㉛ **Neue Flavonglykosid-Derivate für den Einsatz in Kosmetika, Pharmazeutika und Ernährung**

㉜ **Flavon- und Isoflavonglykosid-Derivate der allgemei-
nen Formel (I):**
 $[A_1-C(=O)O]_m-[X-O-Z]-[O-C(=O)-A_2]_n$
worin [X-O-Z] eine Flavon- oder Isoflavonglykosid-Struk-
tur darstellt,
worin X einen Flavon- oder Isoflavongrundkörper der For-
mel (IIa) bzw. (IIb)

Methylengruppen zwischen Ester-Gruppe und aromati-
schem Ring darstellen,
worin [C(=O)A₂] einen Acylrest am Zucker Z darstellt,
worin n eine ganze Zahl (1, 2, 3...), nicht aber 0 ist,
worin m eine ganze Zahl einschließlich 0 (0, 1, 2, 3...) ist
und
worin R₁, R₂, R₃ Hydroxylgruppen oder Wasserstoff-Atome darstellen.



darstellt, wobei der (Iso-)Flavongrundkörper einfach oder mehrfach substituiert und/oder einfach oder mehrfach reduziert (hydriert) ist,
worin Z (Zucker) für ein Mono-, Disaccharid oder Polysaccharid steht, das acetalisch an den Rest X gebunden und n-fach esterartig mit A₂ substituiert ist,
worin [A₁-C(=O)] einen Acylrest am Flavon- oder Isoflavongrundkörper darstellt,
worin A₁ und A₂ unabhängig voneinander einen mehrfach ungesättigten C₁₅-C₂₅-Alkenylrest mit mindestens 4 isolierten und/oder mindestens zwei konjugierten Doppelbindungen oder einen arylaliphatischen Rest mit 1-4

DE 100 19 235 A 1

Beschreibung

[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft neue, biologisch aktive Flavon- und Isoflavonglykosid-Derivate der allgemeinen Formel (I)



von aliphatischen und arylaliphatischen Carbonsäuren, Verfahren zu ihrer Herstellung und diese Verbindungen enthaltende kosmetische und/oder pharmazeutische Zubereitungen, ebenso wie deren Einsatz als Zusatzstoffe in der Ernährung und in Futtermitteln.

[0002] In der Kosmetik wird die Anwendung von Wirkstoffen immer wichtiger. Bei den Wirkstoffen, die bisher bereits Anwendung in der Kosmetik finden, handelt es sich nicht immer um Naturstoffe. Die Optimierung bekannter Wirkstoffe und die Herstellung neuer Wirkstoffe sind Gegenstand vieler Forschungsarbeiten.

[0003] Im weitesten Sinne sind Wirkstoffe solche Stoffe, die – in relativ kleinen Mengen vorkommend oder zugeführt – große physiologische Wirkung entfalten können. Hier ist an Hormone, Vitamine, Enzyme, Spurenelemente etc. zu denken, aber auch an Pharmaka (Arzneistoffe), Futterzusätze, Düngemittel und Schädlingsbekämpfungsmittel. Nicht selten kann man auch Synergismus beobachten.

Flavone und Isoflavone/Flavonoide und Isoflavonoide bzw. Flavonglykoside und Isoflavonglykoside

[0004] Flavone sind 2-Phenyl-4H-1-benzopyran-4-one, bei denen an verschiedenen Positionen der Ringe Hydroxylgruppen vorliegen oder auch fehlen können. Ein Beispiel für ein Flavon ist Apigenin, dessen chemischer Name 2-(p-Hydroxyphenyl)-4H-1-(5,7-dihydroxybenzopyran-4-on lautet (siehe Römpf Chemie-Lexikon, 9. Auflage, Band 2, S. 1373/4). Die zusätzlichen Hydroxylgruppen sitzen dabei, wie das genannte Beispiel zeigt, an dem Phenyl- und/oder dem Benzopyranring. Anders ausgedrückt: im Sinne der vorliegenden Erfindung sind unter Flavonen Stoffe zu verstehen, die Hydrierungs-, Oxidations- oder Substitutionsprodukte des 2-Phenyl-4H-1-benzopyran-4-ons darstellen, wobei eine Hydrierung in der 2,3-Stellung des Kohlenstoffgerüsts erfolgen kann, und wobei unter Substitution der Ersatz eines oder mehrerer Wasserstoffatome durch Hydroxy- oder Methoxy-Gruppen zu verstehen ist. Bei dieser Definition sind also Flavane, Flavan-3-ole (Catechine), Flavan-3,4-diole (Leukoanthocyanidine), Flavone, Flavonole und Flavanone im herkömmlichen Sinn eingeschlossen. Zu den erfindungsgemäßen Flavonen zählen neben Apigenin beispielsweise Chrysin, Galangin, Fisetin, Luteolin, Kämpferol, Quercetin, Morin, Robinetin, Gossypetin, Taxifolin, Myricetin, Rhamnetin, Isorhamnetin, Naringenin, Eriodictiol, Hesperetin, Liquiritigenin, Catechin und Epicatechin.

[0005] Unter Isoflavonen sind im Sinne der vorliegenden Erfindung hingegen solche Stoffe zu verstehen, die Hydrierungs-, Oxidations- oder Substitutionsprodukte des 3-Phenyl-4H-1-benzopyran-4-ons darstellen, wobei eine Hydrierung in der 2,3-Stellung des Kohlenstoffgerüsts erfolgen kann, und wobei unter Substitution der Ersatz eines oder mehrerer Wasserstoffatome durch Hydroxy- oder Methoxy-Gruppen zu verstehen ist. Zu den erfindungsgemäßen Isoflavonen zählen beispielsweise Daidzein, Genistein, Prunetin, Biochanin, Orobol, Santal, Pratensein, Irgenin, Glycitein, Biochanin A und Formononetin.

[0006] Flavone und Flavonglykoside (Flavonoide) wie Asparatin, Orientin (Lutexin), Cisorientin (Lutonaretin), Isoquercetin, Rutin, Naringin und die oben genannten, aber auch Isoflavone und Isoflavonglykoside (Isoflavonoide) sind bekanntermaßen Fänger von Sauerstoffradikalen sowie Hemmer von Proteasen der Haut, wodurch sie aktiv der Alterung der Haut und Vernarbungen entgegenwirken können. Wegen ihrer färbenden Eigenschaften sind einige Flavone wie Quercetin als Lebensmittelfarbstoffe in Gebrauch. Gleichzeitig wirken sie auf Grund ihrer Fähigkeit, Sauerstoffradikale einzufangen, auch als Antioxidantien. Einige Flavonoide sind Inhibitoren der Aldose-Reduktase. Diese spielt bei der Entstehung von Diabetesschäden (Gefäßschäden, Grauer Star) eine entscheidende Rolle. Andere Flavonoide (wie Hesperidin und Rutin) finden therapeutische Verwendung insbesondere als gefäßerweiternde, kapillaraktive Mittel.

[0007] Die erfindungsgemäß durchgeführten Derivatisierungen erzielen eine verbesserte Wirkung sowie eine erhöhte Bioverfügbarkeit, wie es bereits früher am Beispiel von Salicinderivaten gezeigt wurde.

[0008] Viele natürlich vorkommende Alkyl- und Phenol-Glucoside zeigen antivirale, antimikrobielle und teilweise antiinflammatorische Wirkungen. Sie sind jedoch oft aufgrund ihrer Polarität wenig bioverfügbar bzw. ihre Selektivität ist zu gering. Beispielsweise ist Salicin (ein glykosidischer Wirkstoff aus der Weidenrinde) ein nichtsteroidales antiinflammatorisches Agens (NSAIA), das nach Derivatisierung (Veresterungen) deutlich verbesserte Wirksamkeit zeigt. Kürzlich gelang die Synthese neuer arylaliphatischer Salicinester wie Phenylacetyl-Salicin oder Phenylbutyryl-Salicin, wobei die Veresterung bevorzugt an den primären OH-Gruppen des Salicins (zunächst am Zucker, dann am Benzylrest) im Salicin erfolgte. Aufgrund des arylaliphatischen Restes wird der Stofftransport an den Wirkort verbessert und die Selektivität der Wirkung erhöht. So inhibieren diese Derivate im Gegensatz zu unmodifiziertem Salicin bevorzugt die Prostaglandinsynthese 2 (geringere Gefahr von Nebenwirkungen) (Ralf T. Otto, Biotechnologische Herstellung und Charakterisierung neuer pharmazeutisch aktiver Glykolipide, Dissertation (1999) ISBN 3-86186-258-1).

PUFAs und CLAs

[0009] Die PUFAs (engl. polyunsaturated fatty acids) und CLAs (conjugated linoleic acids) gehören in der Ernährung zu der Gruppe der essentiellen Fettsäuren und zeigen zusätzlich eine positive Wirkung beim Einsatz in der Prophylaxe von Arteriosklerose. Daneben sind auch pharmazeutische Effekte von Bedeutung: Sie können antiinflammatorische (Hemmung der Prostaglandin- bzw. Leukotriensynthese), aber auch eine thrombolytische und hypotensive Wirkung aufweisen.

[0010] Erfindungsgemäß wird PUFA definiert als eine mehrfach ungesättigte Fettsäure mit 16 bis 26 C-Atomen, wobei die Fettsäure mindestens vier isolierte und/oder mindestens zwei konjugierte Doppelbindungen aufweist. Beispiele für

PUFAs sind die insgesamt zwölf zur Linolsäure (cis, cis, 9,12-Octadecadiensäure) isomeren Octadecadiensäuren (die in der Natur vorkommen), die über konjugierte Doppelbindungen an den C-Atomen 9 und 11, 10 und 12, oder 11 und 13 verfügen.

[0011] Diese Isomeren der Linolsäure (z. B. cis, trans, 9,11-Octadecadiensäure, trans, cis, 10,12-Octadecadiensäure, cis, cis, 9,11-Octadecadiensäure, trans, cis, 9,11-Octadecadiensäure, trans, trans, 9,11-Octadecadiensäure, cis, cis, 10,12-Octadecadiensäure, cis, trans, 10,12-Octadecadiensäure, trans, trans, 10,12-Octadecadiensäure) lassen sich auf herkömmlichem Weg mittels chemischer Isomerisierung der Linolsäure herstellen, wobei diese Reaktionen in Abhängigkeit der Reaktionsbedingungen ausschließlich zu CLA-Gemischen unterschiedlichster Zusammensetzung führen (z. B. Edenor UKD 6010, Henkel KGaA).

[0012] Aufgrund ihrer konjugierten Doppelbindungen werden diese isomeren Octadecadiensäuren auch als "conjugated linoleic acids" (CLAs) bezeichnet.

[0013] Obwohl in der Literatur bereits zahlreiche pharmakologisch wirksame Stoffe beschrieben sind, die beispielsweise in die Entzündungskaskade eingreifen, besteht weiterhin ein Bedarf an besser wirksamen, an Nebenwirkungen armen Wirkstoffen. Weiter besteht ein Bedarf an Wirkstoffen mit einer guten Resorbierbarkeit und einer schnellen Penetration in die Haut, die zudem gut in pharmazeutische oder kosmetische Formulierungen einarbeitbar sein müssen.

[0014] Die Aufgabe, die der vorliegenden Erfindung zugrunde liegt, bestand also darin, solche nebenwirkungsarmen, gut wirkenden und gut zu verarbeitenden und zu applizierenden Substanzen bereitzustellen.

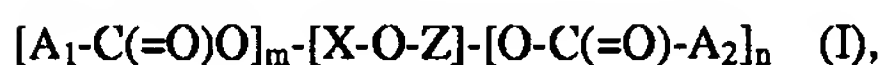
[0015] Flavon- und Isoflavonglykoside sind z. B. aus der Natur bekannt. Nicht bekannt (weder aus Pflanzen, Mikroorganismen oder tierischen Zellen noch synthetisch hergestellt) sind hingegen Ester solcher Flavon- und Isoflavonglykoside, bei denen mindestens eine der Hydroxylgruppen des Zuckers mit einer (ungesättigten) Carbon- bzw. Fettsäure verestert ist, und bei denen weiterhin eventuell eine weitere Estergruppierung zwischen einer der Hydroxylgruppen des Flavon- oder Isoflavon-Anteils und einer weiteren ungesättigten Fettsäure vorliegt.

[0016] Überraschenderweise wurde von den Erfindern gefunden, daß bestimmte Flavon- und Isoflavonglykosid-Ester eine gegenüber den bekannten Einzelkomponenten (Fettsäure bzw. (Iso-) Flavonglykosid) verbesserte biologische Verfügbarkeit, verstärkte Wirkung und/oder ein verbreitertes Wirkspektrum aufweisen. Bei diesen (Iso-)Flavon-Glykosid-Derivaten sind die Flavone oder Isoflavone über mindestens eine Hydroxylgruppe mit mindestens einem Zucker glykosidisch verknüpft. Dabei kann der Zucker über eine OH-Gruppe am Benzopyran-Ring oder über eine OH-Gruppe am Phenylring des (Iso-)Flavonrestes mit diesem verknüpft sein. Auch die Gruppierung $[A_1-C(=O)]$ kann über eine OH-Gruppe am Benzopyran-Ring oder über eine OH-Gruppe am Phenylring des (Iso-)Flavonrestes mit diesem verknüpft sein. Es ist bevorzugt, wenn der Zucker über den Benzopyran-Ring und die Fett-/Carbonsäure ebenfalls über den Benzopyran-Ring oder über den Phenylring des (Iso-)Flavonrestes mit diesem verknüpft ist.

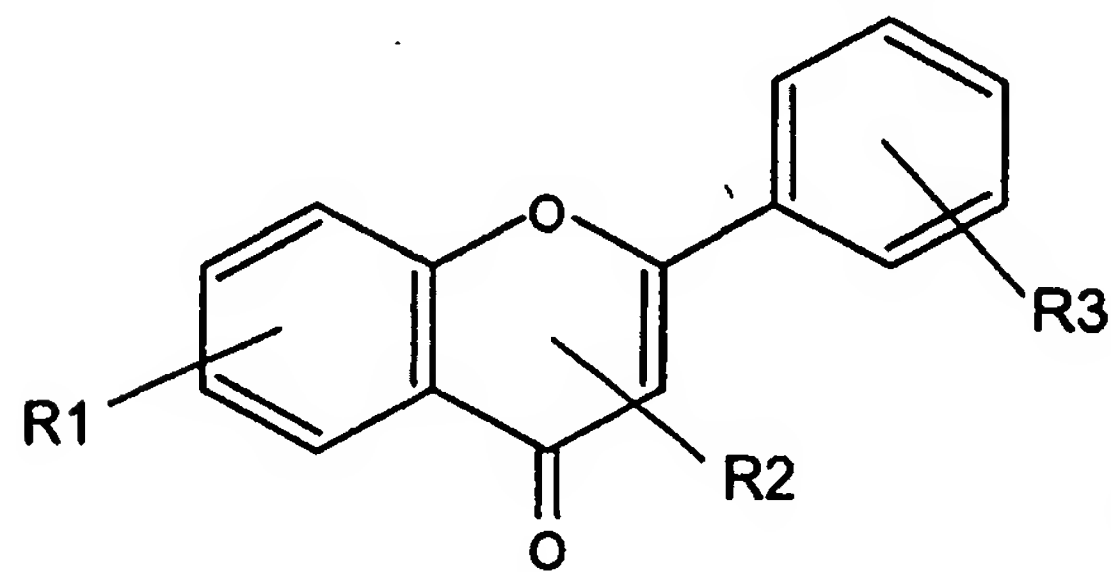
[0017] Als Zucker kommen Mono- und Oligosaccharide, insbesondere D-Glucose, D-Galactose, D-Xylose, D-Apiose, L-Rhamnose, L-Arabinose und Rutinose in Betracht. Beispiele für die Flavon-Glykosid-Reste in den erfindungsgemäßen Verbindungen sind Rutin, Hesperidin und Naringin. Bevorzugte Beispiele für die Isoflavon-Glykosid-Reste in den erfindungsgemäßen Verbindungen sind Daidzin und Genistin.

[0018] Durch die Bereitstellung der Verbindungen der vorliegenden Erfindung konnten die Erfinder die gestellte Aufgabe lösen.

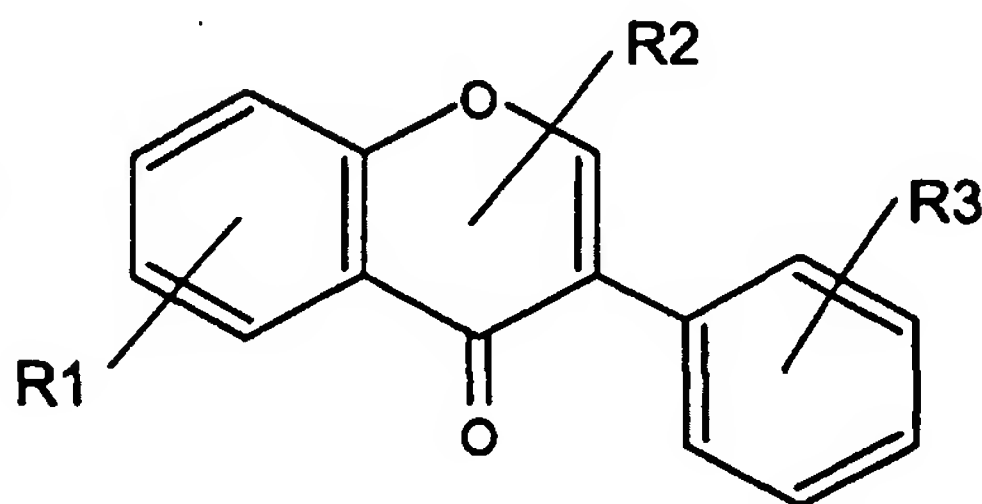
[0019] Die Verbindungen der vorliegenden Erfindung sind Flavon- und Isoflavonglykosid-Derivate der allgemeinen Formel (I):



worin $[X-O-Z]$ eine Flavon- oder Isoflavonglykosid-Struktur darstellt,
worin X einen Flavon- oder Isoflavongrundkörper der Formel (IIa) bzw. (IIb)



(IIa)



(IIb)

darstellt, wobei der (Iso-)Flavongrundkörper einfach oder mehrfach substituiert und/oder einfach oder mehrfach reduziert (hydriert) ist,

worin Z (Zucker) für ein Mono-, Disaccharid oder Polysaccharid steht, das acetalisch an den Rest X gebunden und n-fach esterartig mit A_2 substituiert ist.

worin $[A_1-C(=O)]$ einen Acylrest am Flavon- oder Isoflavongrundkörper darstellt,

worin A_1 und A_2 unabhängig voneinander einen mehrfach ungesättigten C_{15} - C_{25} -Alkenylrest mit mindestens 4 isolierten und/oder mindestens zwei konjugierten Doppelbindungen oder einen arylaliphatischen Rest mit 1-4 Methylengruppen

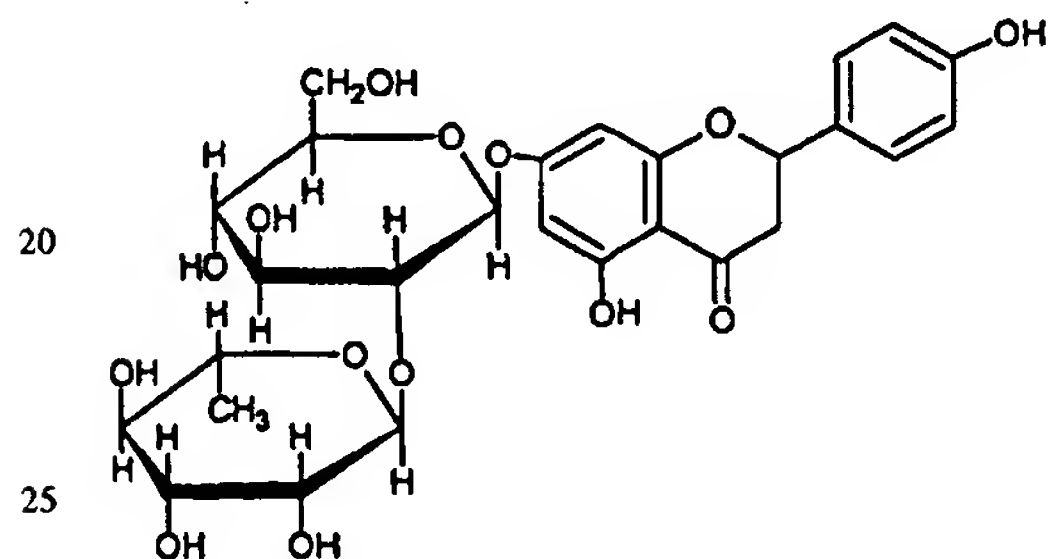
zwischen Ester-Gruppe und aromatischem Ring darstellen,
 worin $[C(=O)A_2]$ einen Acylrest am Zucker Z darstellt,
 worin n eine ganze Zahl (1, 2, 3, ...), nicht aber 0 ist,
 worin m eine ganze Zahl (1, 2, 3, ...) einschließlich 0 ist, und

5 worin R1, R2, R3 Hydroxylgruppen oder Wasserstoff-Atome darstellen.

[0020] Bevorzugte Zuckeranteile sind allgemein solche Z, die ein Monosaccharid bedeuten. Insbesondere bevorzugt sind folgende Monosaccharide: Rhamnose, Threose, Erythrose, Arabinose, Lyxose, Ribose, Xylose, Allose, Altrose, Galactose, Glucose, Gulose, Idose, Mannose, Talose und Fructose, wobei die natürlich vorkommenden Stereoisomere der Zucker die jeweils bevorzugte Form ist. Ebenfalls bevorzugt sind Disaccharide, die aus den zuvor genannten Monosacchariden aufgebaut sind, wobei wiederum die natürlich vorkommenden Stereoisomere der Zucker die jeweils bevorzugte Form ist.

10 [0021] Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform erfolgt die Bindung des (Iso-)Flavongrundkörpers an den Zucker über eine primäre Alkoholgruppe des Zuckers (z. B. über OH an C₆ der Glukose). Gemäß einer weiteren bevorzugten Ausführungsform ist Z-O-X das Naringin-Gerüst mit der Formel (III)

15



(III)

30 [0022] Weitere bevorzugte Flavone/Flavonoide (X bzw. X-O-Z) in der allgemeinen Formel (I) sind Asparatin, Orientin (Lutexin), Cisorientin (Lutonaretin), Isoquercitin, Naringin, Rutin, Kämpferol und Quercetin handelt.

[0023] Bevorzugte Verbindungen der allgemeinen Formel (I) sind vor allem solche, bei denen X-O-Z Naringin gemäß Formel (III) ist, und A₂ die Acylreste folgender Säuren sind: p-Chlorphenylessig-, Hydrozimt-, Stearin-, 12-Hydroxystearin-, Palmitin-, Laurin-, Öl-, Coumar-, Caprin-, Zimt-, 4-Phenylbutter-, 4-Hydroxyphenylessig-, 5-Phenylvaleriansäure oder die unter den Handelsnamen erhältlichen Gemische Edenor UKD 6010 und UKD 7505. Edenor UKD 6010 und UKD 7505, p-Chlorphenylessig- und Hydrozimtsäure sind besonders bevorzugte Säuren. Besonders bevorzugt ist für alle diese Kombinationen aus Naringin und den genannten Fettsäuren, wenn n = 1 oder n = 2 und m gleichzeitig 0 ist. Wenn n = 1 (und m = 0), ist die bevorzugte Position von A₂ die primäre OH-Gruppe am Zucker-Anteil in der Formel (III). Aber auch alle sekundären OH-Gruppen des Zuckers kommen als bevorzugte Ausführungsformen für die Veresterung in Betracht. Wenn n = 2 (und m = 0), ist es bevorzugt, wenn eine Veresterung an der primären OH-Gruppe und die zweite an einer der sekundären OH-Gruppen des Zuckers, insbesondere an einer der beiden sekundären OH-Gruppen am selben oder an einer der drei sekundären OH-Gruppen des zweiten Sechsrings, erfolgt.

[0024] Weitere bevorzugte Verbindungen der allgemeinen Formel (I) sind solche, bei denen X-O-Z Naringin ist, A₂ die Acylreste folgender Säuren sind: p-Chlorphenylessig-, Hydrozimt-, Stearin-, 12-Hydroxystearin-, Palmitin-, Laurin-, Öl-, Coumar-, Caprin-, Zimt-, 4-Phenylbutter-, 4-Hydroxyphenylessig-, 5-Phenylvaleriansäure oder die unter den Handelsnamen erhältlichen Gemische Edenor UKD 6010 und UKD 7505; n = 1 oder n = 2 und m gleichzeitig 1 ist. Wenn n und m beide 1 sind, ist die bevorzugte Position von A₂ die primäre OH-Gruppe im Zucker, die von A₁ entweder die 5-OH-Gruppe des Benzopyran- oder die 4'-Hydroxy-Gruppe des Phenylrings. Aber wie im Fall, wenn m = 0, kann A₂ auch über alle sekundären OH-Gruppen des Zuckers verestert werden. Wenn n = 2 und m gleichzeitig 1 ist, ist es bevorzugt, wenn die eine Veresterung von A₂ an der primären OH-Gruppe und die zweite an einer der sekundären OH-Gruppen des Zuckers, insbesondere an einer der beiden sekundären OH-Gruppen am selben oder an einer der drei sekundären OH-Gruppen des zweiten Sechsrings, und die Veresterung von A₁ über den Benzopyran- oder den Phenylring erfolgt.

[0025] Die Erfinder haben herausgefunden, daß die Verbindungen der allgemeinen Formel (I) überraschenderweise durch milde lipase-katalysierte Veresterungen gewonnen werden können.

55 [0026] Demnach ist ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung ein Verfahren zur Herstellung der erfindungsgemäßen Verbindungen der Formel (I). Das erfindungsgemäße Verfahren ist dadurch gekennzeichnet, daß ein Acetal (aus Zucker und Flavon-/Isoflavon-Grundkörper) mit einer polyungesättigten Fettsäure (mit mindestens vier isolierten Doppelbindungen oder mit mindestens zwei konjugierten Doppelbindungen) wie einer konjugierten Linolsäure (Octadeca-diensäure), mit einer arylaliphatischen Carbonsäure, mit einem Ester dieser Carbonsäuren oder mit einem aktivierten Fettsäurederivat unter katalytischer Einwirkung von einem oder mehreren Enzymen verestert oder umgeestert wird. Die Veresterung an primären OH-Gruppen des Zuckers ist dabei bevorzugt, aber auch sekundäre Alkohol-Gruppen des Zuckers können verestert werden.

[0027] Zu den geeigneten enzymatischen Katalysatoren zur Veresterung der genannten Säuren und den Hydroxylgruppen-enthaltenden Acetal-Komponenten zählen die Hydrolasen, speziell die Lipasen (Ester-Hydrolasen) wie die Lipasen aus Candida rugosa (ehemals Candida cylindracea), Candida antarctica, Geotrichum candidum, Aspergillus niger, Penicillium roqueforti, Rhizopus arrhizus und Mucor miehei.

65 [0028] Eine bevorzugte Lipase ist die Lipase (Isoenzym B) aus Candida antarctica, wofür es zwei Gründe gibt. Erstens zeigt sie eine besonders hohe Selektivität bei der Veresterung der Acetale mit den ungesättigten Fettsäuren, obwohl diese

nicht zu ihren typischen Substraten zählen. Des weiteren zeigt sie keine Grenzflächenaktivierung (ein entscheidendes Merkmal zur Klassifizierung von Hydrolasen in die Gruppe der Lipasen), da ihr ein wichtiges Lipasestrukturmerkmal, eine bewegliche Peptidkette am aktiven Zentrum (sog. lid) fehlt.

[0029] Bei der Herstellung der erfindungsgemäßen Verbindungen nach den üblichen Methoden der chemischen Synthese kommt es wegen der Anwesenheit mehrerer freier Hydroxylgruppen des Zuckers und/oder Flavon-/Isoflavon-Grundkörpers in der Regel zur Bildung von Gemischen aus einfach und mehrfach veresterten Produkten, so daß die Einführung und Entfernung von Schutzgruppen notwendig ist, wenn man gezielt eine bestimmte Verbindung synthetisieren will.

[0030] Gerade die gezielte Veresterung ist aber für die biologische Verfügbarkeit und Verträglichkeit der erfindungsgemäßen Substanzen entscheidend. Die chemische Synthese führt jedoch aufgrund mangelnder Regioselektivität zu groben Produktgemischen. Daher ist die hier beschriebene enzymatische (siehe Beispiele) milde und regioselektive Synthese von Vorteil. Erfindungsgemäß bedeutet regiospezifisch, daß nur eine bestimmte OH-Gruppe eines Polyols verestert wird. Entsprechend bedeutet regioselektiv, daß eine bestimmte OH-Gruppe eines Polyols bevorzugt, aber nicht ausschließlich, verestert wird.

[0031] Sind die erfindungsgemäßen Verbindungen der Formel (I) erst einmal mittels des erfindungsgemäßen Verfahrens hergestellt worden, muß in aller Regel ein Verfahren folgen, um die gewünschte(n) Verbindung(en) aufzureinigen. Somit besteht ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung darin, ein Verfahren zur Aufreinigung der Verbindungen der Formel (I) bereitzustellen, das dadurch gekennzeichnet ist, daß es sich um ein wäßriges Zweiphasen-Extraktionsverfahren mit organischen Lösungsmitteln handelt, mit dem die Zielverbindung selektiv von den nicht umgesetzten Fettsäuren getrennt werden kann. Vorzugsweise handelt es sich bei dem organischen Lösungsmittel um n-Hexan, Cyclohexan, THF, Diethylether. Alternativ kann die Aufreinigung auch durch ein chromatographisches Verfahren an Kieselgel, vorzugsweise mit Ethylacetat/Methanol- oder Dichlormethan/Methanol-Gemischen mit geringen Anteilen Essigsäure und/oder Wasser erfolgen, das auch zusätzlich zu einem wäßrigen Zweiphasen-Extraktionsverfahren mit organischen Lösungsmitteln durchgeführt werden kann.

[0032] Da die erfindungsgemäßen Flavon-/Isoflavonglykoside der Formel (I) eine gute biologische Verfügbarkeit und Wirkung haben, lassen sie sich in kosmetischen und pharmazeutischen Zubereitungen und/oder als Nahrungsmittel-Zusatzstoffe verwenden mit dem Ergebnis, daß die Qualität ebendieser Produkte deutlich verbessert wird.

[0033] Die erfindungsgemäßen Verbindungen der Formel (I) weisen eine Inhibition von Hautproteasen (anti-aging, anti-wrinkling), ein antioxidatives Potential, hautaufhellende Wirkung sowie eine Inhibition der Transkription auf. Überraschend ist vor allem die hautaufhellende Wirkung (infolge einer Hemmung der Tyrosinase) dieser Verbindungen, insbesondere die gute hautaufhellende Wirkung der erfindungsgemäßen Verbindungen, bei denen Z-O-X Naringin und dessen primäre OH-Gruppe entweder mit Phenylpropionsäure, mit Hydroxyphenylelessigsäure oder mit p-Chlorphenylelessigsäure verestert ist.

[0034] Darüber hinaus sind die erfindungsgemäßen Verbindungen besonders gut in lipophile Basisrezepturen einarbeitbar und lassen sich auf einfache Weise als stabile Emulsionen formulieren.

[0035] Dementsprechend werden die erfindungsgemäßen Verbindungen der Formel (I) zur Herstellung von kosmetischen und/oder pharmazeutischen Zubereitungen und/oder Nahrungs- bzw. Futtermitteln verwendet. Die erfindungsgemäßen Verbindungen können in Form der Reinsubstanz oder als Gemisch aus Pflanzenextrakten unterschiedlicher Herkunft vorliegen bzw. verwendet werden.

[0036] Bevorzugterweise werden dabei die (Iso-)Flavone und deren Glykoside als Bestandteile eines aus einer Pflanze gewonnenen Substanzgemisches, insbesondere eines pflanzlichen Extraktes, in den Zubereitungen/Zusatzstoffen verwendet. Solche pflanzlichen Substanzgemische können in einer dem Fachmann geläufigen Weise, beispielsweise durch Auspressen oder Extrahieren aus Pflanzen wie Zitrusgewächsen (Familie der Rutaceae) oder Akazien gewonnen werden.

[0037] Weitere Gegenstände der Erfindung sind danach die Verwendung der Verbindungen der Formel (I) zur Herstellung von kosmetischen und/oder pharmazeutischen Zubereitungen; die Verwendung als Nahrungsergänzungs- oder -zusatzstoffe in Nahrungszubereitungen und in Futtermitteln (z. B. für die Tierzucht); kosmetische und pharmazeutische Zubereitungen sowie Nahrungsmittel/-zubereitungen und Futtermittel, die (eine) Verbindung(en) der Formel (I) enthalten.

[0038] Die unter erfindungsgemäßer Verwendung der Verbindungen (I) erhältlichen kosmetischen Zubereitungen, wie Haarshampoos, Haarlotionen, Schaumbäder, Duschbäder, Cremes, Gele, Lotionen, alkoholische und wäßrig/alkoholische Lösungen, Emulsionen, Wachs/Fett-Massen, Stiftpreparate, Puder oder Salben, können ferner als Hilfs- und Zusatzstoffe milde Tenside, Ölkörper, Emulgatoren, Überfettungsmittel, Perlglanzwachse, Konsistenzgeber, Verdickungsmittel, Polymere, Siliconverbindungen, Fette, Wachse, Stabilisatoren, biogene Wirkstoffe, Deowirkstoffe, Antischuppenmittel, Filmbildner, Quellmittel, UV-Lichtschutzfaktoren, Antioxidantien, Hydrotrope, Konservierungsmittel, Insektenrepellentien, Selbstbräuner, Solubilisatoren, Parfümöle, Farbstoffe, keimhemmende Mittel und dergleichen enthalten.

[0039] Die Einsatzmenge der erfindungsgemäßen Verbindungen in den kosmetischen (aber auch pharmazeutischen) Zubereitungen liegt üblicherweise im Bereich von 0,01 bis 5 Gew.-%, vorzugsweise jedoch im Bereich von 0,1 bis 1 Gew.-%, bezogen auf die Gesamtmasse der Zubereitungen.

[0040] Zur Herstellung pharmazeutischer oder auch kosmetischer Zubereitungen lassen sich die erfindungsgemäßen Verbindungen der allgemeinen Formel (I), gegebenenfalls in Kombination mit anderen Wirksubstanzen, zusammen mit einem oder mehreren inerten üblichen Trägerstoffen und/oder Verdünnungsmitteln, z. B. mit Maisstärke, Milchezucker, Rohrzucker, mikrokristalliner Cellulose, Magnesiumstearat, Polyvinylpyrrolidon, Zitronensäure, Weinsäure, Wasser, Wasser/Ethanol, Wasser/Glycerin, Wasser/Sorbit, Wasser/Polyethylenglykol, Propylenglykol, Carboxymethylcellulose oder fetthaltigen Substanzen wie Hartfett oder deren geeigneten Gemischen, in übliche galenische Zubereitungen wie Tabletten, Dragees, Kapseln, Pulver, Suspensionen, Tropfen, Ampullen, Säfte oder Zäpfchen einarbeiten.

[0041] Die zur Erzielung einer entsprechenden Wirkung bei pharmazeutischen Anwendungen erforderliche tägliche Dosierung beträgt zweckmäßigerweise 0,1 bis 10 mg/kg Körpergewicht, vorzugsweise 0,5 bis 2 mg/kg Körpergewicht.

[0042] Die unter erfindungsgemäßer Verwendung der Verbindungen der Formel (I) erhältlichen Nahrungsersatz- und -zusatzstoffe wie Sportler-Drinks enthalten geeigneterweise die Verbindung(en) der Formel (I) in einer Menge, die bei ei-

DE 100 19 235 A 1

nem üblichen Bedarf an Flüssigkeitsaufnahme von 1 bis 5 Litern pro Tag zu einer Dosierung dieser Verbindungen von an 0.1 bis 10 mg, vorzugsweise 0,5 bis 5 mg, pro kg Körpergewicht führt. Eine beispielhafte Verwendung in der Nahrungsmittelindustrie besteht für die Verbindungen der Formel (I) als Färb- und/oder Gewürzstoffe.

5 Beispiele

Beispiel 1

6-O-cis-9,trans-11-Octadecadienoyl-Naringin

10 [0043] 2 g D-(-)-Naringin 5 g, CLA (Edenor UKD 6010), 12 g Molekularsieb, 15 ml t-Butanol und 10 g immobilisierte Lipase B aus *Candida antarctica* wurden 40 Stunden bei 60°C und 100 rpm am Magnetrührer im 250 ml Erlenmeyerkolben inkubiert. Die Umsetzung wurde mittels Dünnschichtchromatographie (Kieselgel KG60-Platten mit Fluoreszenzindikator; Laufmittel: Ethylacetat/Methanol 10 : 1 v/v; Visualisierung: UV-Detektion sowie mittels Essigsäure/Schwefelsäure/Anisaldehyd (100 : 2 : 1 v/v/v)- Tauchreagenz nachgewiesen. Das Produkt wurde mit 20 ml n-Hexan extrahiert und über Säulenchromatographie (Kieselgel F60; Laufmittel: Ethylacetat/Methanol 10/1 v/v) gereinigt. R_f-Wert: 0.47 (Ethylacetat/Methanol 10 : 1)

Beispiel 2

20 [0044] Naringin-Derivate, hergestellt wie unter Beispiel 1 beschrieben. Die Umsetzung wurde mittels Dünnschichtchromatographie kontrolliert.

Naringin-Screen

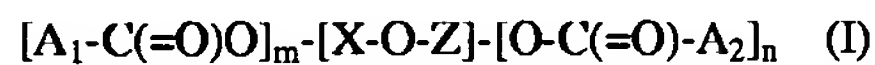
25 48 h/65°C/1200 Upm/Novozym SP435

	Umsetzung
1 Stearinsäure	+
30 2 Palmitinsäure	++
3 Laurinsäure	++
4 Ölsäure	+
5 Coumarsäure	+
6 p-Chlorphenylelessigsäure	++
35 7 Caprinsäure	+
8 Zimtsäure	+
9 4-Hydroxyphenylelessigsäure	++
10 5-Phenylvaleriansäure	++
11 4-Phenylbuttersäure	++
40 12 Hydrozimtsäure	++
13 12-Hydroxy-Stearinsäure	+
14 Edenor UKD6010	+

+ bedeutet bis 15% Umsatz.
45 ++ bedeutet über 15% Umsatz

Patentansprüche

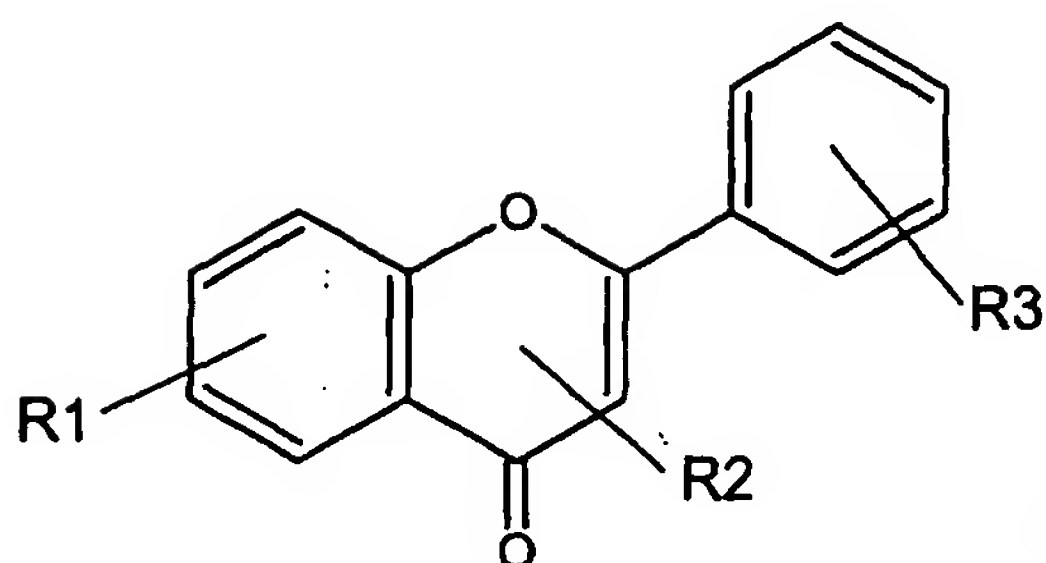
50 1. Flavon- und Isoflavonglykosid-Derivate der allgemeinen Formel (I):



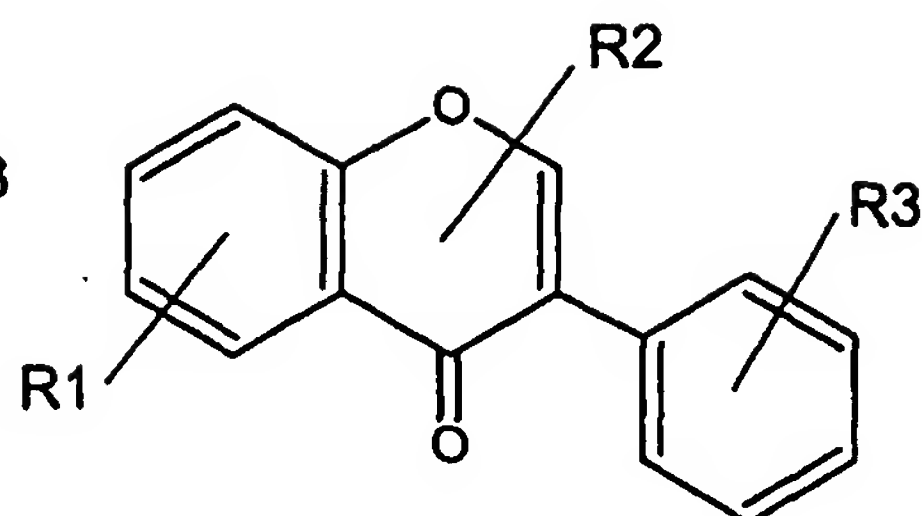
55 worin [X-O-Z] eine Flavon- oder Isoflavonglykosid-Struktur darstellt,
worin X einen Flavon- oder Isoflavongrundkörper der Formel (IIa) bzw. (IIb)

60

65



(IIa)



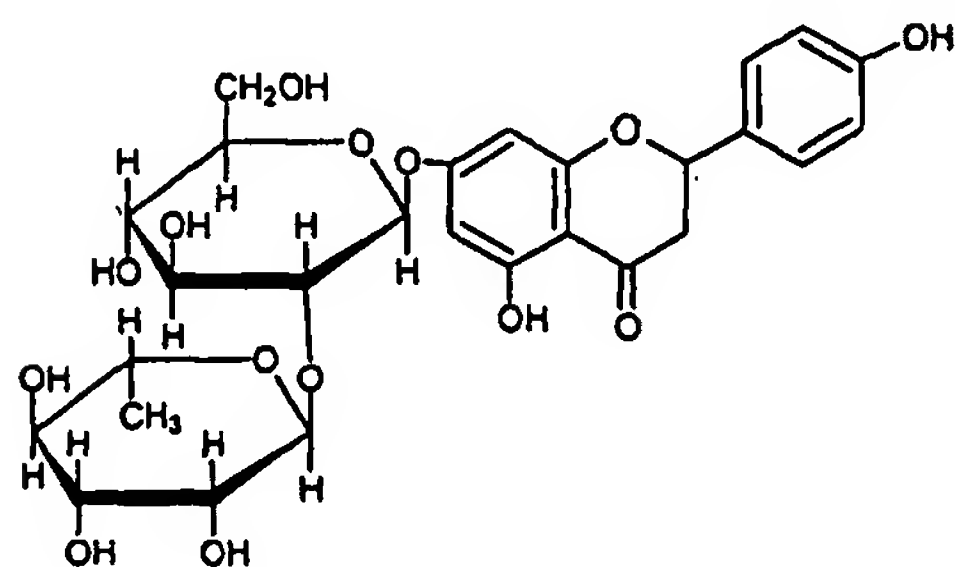
(IIb)

darstellt, wobei der (Iso-)Flavongrundkörper einfach oder mehrfach substituiert und/oder einfach oder mehrfach reduziert (hydriert) ist,
 worin Z (Zucker) für ein Mono-, Disaccharid oder Polysaccharid steht, das acetalisch an den Rest X gebunden und n-fach esterartig mit A₂ substituiert ist,
 worin [A₁-C(=O)] einen Acylrest am Flavon- oder Isoflavongrundkörper darstellt,
 worin A₁ und A₂ unabhängig voneinander einen mehrfach ungesättigten C₁₅-C₂₅-Alkenylrest mit mindestens 4 isolierten und/oder mindestens zwei konjugierten Doppelbindungen oder einen arylaliphatischen Rest mit 1-4 Methylengruppen zwischen Ester-Gruppe und aromatischem Ring darstellen,
 worin [C(=O)A₂] einen Acylrest am Zucker Z darstellt,
 worin n eine ganze Zahl (1, 2, 3, . . .), nicht aber 0 ist,
 worin m eine ganze Zahl einschließlich 0 (0, 1, 2, 3, . . .) ist, und
 worin R₁, R₂, R₃ Hydroxylgruppen oder Wasserstoff-Atome darstellen.

2. Die Derivate von Anspruch 1, wobei Z ein Monosaccharid, insbesondere Rhamnose, Threose, Erythrose, Arabinose, Lyxose, Ribose, Xylose, Allose, Altrose, Galactose, Glucose, Gulose, Idose, Mannose, Talose und Fructose, oder ein Disaccharid, insbesondere ein Disaccharid, das aus den zuvor genannten Monosacchariden aufgebaut ist, in ihren jeweils natürlich vorkommenden stereoisomeren Formen, ist.

3. Die Derivate von Anspruch 1 oder 2, wobei der (Iso-)Flavonglykosid-Grundkörper X-O-Z in der allgemeinen Formel (I) Asparatin, Orientin (Lutexin), Cisorientin (Lutonaretin), Isoquercitin, Naringin, oder Rutin ist.

4. Die Derivate von einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei der (Iso-)Flavonglykosid-Grundkörper X-O-Z Naringin der Formel (III)



(III)

ist.

5. Die Derivate von einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei X-O-Z Naringin gemäß Formel (III) ist; wobei A₂ der Acylrest einer der folgenden Säuren ist: p-Chlorphenylessig-, Hydrozimt-, Stearin-, 12-Hydroxystearin-, Palmitin-, Laurin-, Öl-, Coumar-, Caprin-, Zimt-, 4-Phenylbutter-, 4-Hydroxyphenylessig-, 5-Phenylvaleriansäure oder eines der unter den Handelsnamen erhältlichen Gemische Edenor UKD 6010 und UKD 7505; und wobei n 1 oder 2 und m gleichzeitig 0 ist.

6. Die Derivate von Anspruch 5, wobei n 1, m 0 ist und A₂ an die primäre OH-Gruppe des Zuckers in Formel (III) gebunden ist.

7. Die Derivate von einem der Ansprüche 1 bis 4, wobei X-O-Z Naringin gemäß Formel (III) ist; wobei A₂ der Acylrest einer der folgenden Säuren ist: p-Chlorphenylessig-, Hydrozimt-, Stearin-, 12-Hydroxystearin-, Palmitin-, Laurin-, Öl-, Coumar-, Caprin-, Zimt-, 4-Phenylbutter-, 4-Hydroxyphenylessig-, 5-Phenylvaleriansäure oder eines der unter den Handelsnamen erhältlichen Gemische Edenor UKD 6010 und UKD 7505; und wobei n 1 oder 2 und m gleichzeitig 1 ist.

8. Die Derivate von Anspruch 7, wobei n und m 1 sind, A₂ an die primäre OH-Gruppe des Zuckers in Formel (III) und A₁ entweder an die 5-OH-Gruppe des Benzopyran- oder an die 4'-Hydroxy-Gruppe des Phenylrings gebunden sind.

9. Die Derivate von Anspruch 8, wobei n 2 und m 1 sind, ein A₂ an die primäre OH-Gruppe und das zweite A₂ an eine der sekundären OH-Gruppen, insbesondere an eine der beiden sekundären OH-Gruppen am selben oder an eine der drei sekundären OH-Gruppen des zweiten Sechsrings, des Zuckers in Formel (III) und A₁ entweder an die 5-OH-Gruppe des Benzopyran- oder an die 4-Hydroxy-Gruppe des Phenylrings gebunden sind.

10. Verfahren zur Herstellung der Derivate der Formel (I) von einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß ein Acetal X-O-Z aus Zucker und (Iso-)Flavon-Grundkörper, wobei diese (Iso-)Flavon-Grundkörper in Form der Reinsubstanz oder als Gemisch aus Pflanzenextrakten unterschiedlicher Herkunft vorliegen, mit einer polyungesättigten Fettsäure mit mindestens vier isolierten Doppelbindungen und/oder mit mindestens zwei konjugierten Doppelbindungen, mit einer arylaliphatischen Carbonsäure, mit einem Ester dieser Carbonsäuren oder mit einem aktivierten Fettsäurederivat unter katalytischer Einwirkung von einem oder mehreren Enzymen verestert oder umgeestert wird.

11. Das Verfahren von Anspruch 10, wobei die polyungesättigten Fettsäure eine konjugierte Linolsäure (Octadecadiensäure) ist.

12. Das Verfahren von Anspruch 10 oder 11, wobei das oder die Enzyme eine oder mehrere Hydrolasen ist bzw. sind.

13. Das Verfahren von Anspruch 12, wobei die Hydrolase(n) die Lipasen aus *Candida rugosa* (ehemals *Candida cylindracea*), *Candida antarctica*, *Geotrichum candidum*, *Aspergillus niger*, *Penicillium roqueforti*, *Rhizopus arrhizus* und *Mucor miehei*, insbesondere die Lipase (Isoenzym B) aus *Candida antarctica*, ist (sind).

14. Das Verfahren von einem der Ansprüche 10 bis 13, wobei sich an die Veresterungsreaktion ein Schritt zur Aufreinigung der Verbindungen der Formel (I) anschließt, der entweder ein wäßriges Zweiphasen-Extraktionsverfahren mit organischen Lösungsmitteln wie n-Hexan, Cyclohexan, THF oder Diethylether oder ein chromatographisches Verfahren an Kieselgel, vorzugsweise mit Ethylacetat/Methanol- oder Dichlormethan/Methanol-Gemischen mit geringen Anteilen Essigsäure und/oder Wasser, ist.

15. Kosmetische oder pharmazeutische Zusammensetzung oder Nahrungs- bzw. Futtermittel-Zusammensetzung, enthaltend mindestens eines der Derivate von einem der Ansprüche 1 bis 9.